ANALYTICAL TECHNIQUES FOR THE DETERMINATION OF RADIOCHEMICAL PURITY OF RADIOPHARMACEUTICALS PREPARED FROM KITS

PART III - Technetium 99m Labelled Colloids

Environmental Health Directorate
Health Protection Branch

Published by authority of the
Minister of National Health and Welfare

82-EHD-88

COPIES OF THIS PUBLICATION MAY BE OBTAINED FROM:

Public Affairs Directorate,
Department of National Health and Welfare,
5th Floor,
Brooke Claxton Building
Ottawa, K1A 0K9

ABSTRACT

The evaluation of efficacy of commercially available kits used for the preparation of radiopharmaceuticals is one aspect of the Radiation Protection Bureau's radiopharmaceutical quality control program. This report describes some of the analytical methodology employed in the program. The techniques may be of interest to hospital radiopharmacy personnel since many of the tests can be performed rapidly and with a minimum of special equipment, thus enabling the confirmation of radiopharmaceutical purity prior to patient administration. Manufacturers of kits may also be interested in learning of the analytical methods used in the assessment of their products.

The following persons were involved in the preparation of this report: J.R. McLean, L.J. Rockwell, and W.J. Welsh of the Radiation Protection Bureau, Environmental Health Directorate, Ottawa, Ontario.

TABLE OF CONTENTS

	Page
INTRODUCTION	1
ANALYTICAL TECHNIQUES FOR ASSESSING THE RADIOCHEMICAL PURITY OF TECHNETIUM 99m LABELLED COLLOIDS	1
SPECIFICATIONS	3
REFERENCES	4
APPENDIX	5
Paper Chromatography and 85% Methanol as the Solvent System	5
"Michrom" Method with Acetone as the Solvent System	6
Paper Chromatography (With Albumin Loaded Paper) and Nitrogen Purged Saline as the Solvent System	7
Methodology for Assessing the Biodistribution of Tc 99m Labelled Colloids in Mice.	8

INTRODUCTION

The development of the analytical methods presented in this series of reports is one aspect of the radiopharmaceutical quality control program of the Radiation Protection Bureau. These methods are designed to assess the radiochemical purity, and hence indirectly monitor the efficacy of Tc 99m labelled radiopharmaceuticals prepared from kits. The procedures make use of both in vitro and animal (generally mice) in vivo analytical techniques. It is important that radiopharmaceuticals be of an acceptable radiochemical purity. Radiochemical impurities accompanying a radiopharmaceutical, when administered to a patient, do not contribute to the generation of useful nuclear medicine information. Instead, unnecessary radiation dose and possibly degraded scintigraphic images may result.

This report is concerned with Tc 99m labelled colloids (sulphur colloid, phytate, tin colloid, and albumin colloid) used for imaging the reticuloendothelial system (RES). Part I of this series (1) dealt with Tc 99m labelled macroaggregated albumin and normal albumin preparations, while Part II (2) was concerned with Tc 99m labelled bone imaging agents (medronate sodium, etidronate sodium, pyrophosphate, and pyro-plus trimeta-phosphates). The last report in the series will discuss some miscellaneous kit preparations (DTPA, gluceptate, and the numerous derivatives of iminodiacetic acid). The techniques to be described in this report will be of interest to hospital radiopharmacy personnel since some of the tests can be performed rapidly and with a minimum of special equipment, thus assuring the radiochemical purity of the preparation prior to patient administration. Manufacturers of kits may also be interested in learning of the analytical methodology used in the assessment of their products by the Bureau's radiopharmaceutical quality control section. Results of the analytical program are presented in separate reports (3, 4, 5).

Persons not familiar with the chemistry of technetium may wish to refer to Part 1 of this series (1) which included a brief discussion of this subject.

ANALYTICAL TECHNIQUES FOR ASSESSING THE RADIOCHEMICAL PURITY OF TECHNETIUM 99m LABELLED COLLOIDS

The only significant radiochemical impurity that is present in Tc 99m labelled RES imaging agents is free pertechnetate Tc 99m ($^{99m}TcO_4^-$). This water soluble impurity is particularly important because its tissue distribution differs from that of the radiolabelled colloid, thus increasing the background level of radiation in the non-target tissues of the patient. Reduced hydrolysed Tc 99m may also be present in radiolabelled colloids. While being a radiochemical impurity, this colloid would still be taken up by the RES and would contribute to the radioactivity in the target tissues. Hence its presence does not have to be quantitated.

The kit used for the preparation of Tc 99m labelled albumin colloid, New England Nuclear Microlite*, contains normal human serum albumin and medronate sodium as well as several other ingredients. Since there is a theoretical possibility that Tc 99m labelled normal albumin or Tc 99m labelled medronate sodium may be formed when this kit is reconstituted, the analytical methodology should also monitor for the possible presence of these two radiochemical impurities. A summary of the techniques which we use is presented here; detailed step-by-step procedures may be found in the accompanying appendix.

Unreacted free pertechnetate Tc 99m can be quantitated using either paper chromatography (6) or Colombetti's (7) "Michrom" method. Whatman No. 1 paper is used for the former with 85% methanol as the mobile phase. The latter method employs cellulose coated with silica gel as the stationary phase and acetone as the mobile phase. In both systems the $^{99m}TcO_4^-$ migrates with the solvent. The R_f of $^{99m}TcO_4^-$ with the "Michrom" method is 0.9-1.0 and 0.5-0.7 using paper chromatography. The paper chromatography system requires 1-1.5 hours to run; however, the developing time for the "Michrom" method is less than two minutes. For a regulatory program we prefer the paper chromatography system since it gives a visual presentation of the position and shape of peaks, tailing, smearing, etc. and therefore provides more information about the preparation. The "Michrom" method is a very acceptable rapid assay technique. However, should a significant impurity level be detected, the sample should be re-run using paper chromatography to eliminate the possibility of an artifact in the methodology (e.g., position of the cut or abnormal tailing).

The above methods monitor for unreacted free pertechnetate Tc 99m, and with the exception of Tc 99m labelled albumin colloid, this is the only impurity of significance. To monitor the labelling efficiency of this exception, we use paper chromatography in which Whatman No. 1 paper is loaded with albumin and nitrogen purged saline is used as the mobile phase. This is the same procedure that is used to analyse for reduced and hydrolyzed Tc 99m colloid ($^{99m}TcO_2$) in Tc 99m labelled normal albumin (1) and Tc 99m labelled bone imaging agents (2). In this system the Tc 99m labelled albumin colloid as well as $^{99m}TcO_2$ remain at the origin while Tc 99m labelled normal albumin (^{99m}Tc-HSA), Tc 99m labelled medronate sodium (^{99m}Tc-MDP), and $^{99m}TcO_4^-$ all migrate with the solvent yielding unresolved peaks with an R_f of 0.7-1.0.

---

*Registered Trade Mark

The uptake of reticuloendothelial imaging agents depends on the cellular phagocytosis of the colloidal particles. The particle size for this application is less than one micron, well below what can be observed with most light microscopes. Hence the tissue distribution studies are of particular importance for this class of radiopharmaceuticals. Our studies are conducted in a Health Protection Branch outbred strain of male, Swiss Webster mice and generally follow the USP monograph for Tc 99m labelled sulphur colloid (6). These studies are designed to monitor clearance of the colloid from the blood and determine the uptake in selected organs where the labelled radiopharmaceutical and most likely radiochemical impurities will concentrate. Tissues of interest at 10-30 minutes post injection are liver and spleen (where the Tc 99m labelled colloid should deposit) and lung (where larger particles should accumulate).

SPECIFICATIONS

At the moment the USP (6) has published a monograph for only Tc 99m labelled sulphur colloid. However since all the Tc 99m labelled colloids are reticuloendothelial system imaging agents, we are applying the limits in the USP monograph to our analytical results for phytate, tin, and albumin colloids as well as sulphur colloid. Should the USP publish monographs for these other agents, we will alter our specifications accordingly. The present specifications are as follows:

Radiochemical purity: not less than 92%

Biological distribution: not less than 80% of the recovered activity in liver and spleen, and not more than 5% in lungs.

The inclusion of spleen in the 80% specification is the only divergence from the USP monograph. The radiochemical purity specification of 92% only considers the pertechnetate Tc 99m impurity. For Tc 99m labelled albumin colloid we also include ^{99m}Tc-HSA and ^{99m}Tc-MDP; hence the sum of $^{99m}TcO_4^-$, ^{99m}Tc-HSA, and ^{99m}Tc-MDP must not exceed 8%.

Some phytate kits yield a finer colloid, i.e., smaller particles. With these preparations the liver uptake may be decreased and bone marrow uptake increased. Should a phytate kit not meet the specification of not less than 80% in liver plus spleen it should be re-analysed and the entire RES (liver, spleen, bone marrow) included. Bone marrow is not isolated routinely because it is an involved, time consuming procedure.

REFERENCES

1. McLean, J.R., Rockwell, L.J., Welsh, W.J.: Analytical Techniques for the Determination of Radiochemical Purity of Radiopharmaceuticals Prepared fom Kits Part I, Environmental Health Directorate, 77-EDH-16 (1977).

2. McLean, J.R., Rockwell, L.J., Welsh, W.J.: Analytical Techniques for the Determination of Radiochemical Purity of Radiopharmaceuticals Prepared from Kits Part II, Environmental Health Directorate, 81-EHD-70 (1981).

3. McLean, J.R., Rockwell, L.J., Welsh, W.J.: Results of Quality Control Studies of Technetium 99m Labelled Radiopharmaceuticals Prepared from Kits, Environmental Health Directorate, 78-EHD-24 (1978).

4. McLean, J.R., Rockwell, L.J., Welsh, W.J.: Results of Quality Control Studies of Technetium 99m Labelled Radiopharmaceuticals Prepared from Kits (1978-79), Environmental Health Directorate, 81-EHD-75 (1981).

5. McLean, J.R., Rockwell, L.J., Welsh, W.J.: Results of Quality Control Studies of Technetium 99m Labelled Radiopharmaceuticals Prepared from Kits (1980-81) to be published.

6. United States Pharmacopeia, Twentieth Revision (1980), page 766.

7. Colombetti, L.G., Moerlien, S. et al: Rapid Determination of Oxidation State of Unbound ^{99m}Tc and Labelling Yield in ^{99m}Tc-Labelled Radiopharmaceuticals, J. Nucl. Med. 17: 805-809 (September, 1976).

PAPER CHROMATOGRAPHY AND 85% METHANOL AS THE SOLVENT SYSTEM

APPLICABILITY For the measurement of $^{99m}TcO_4^-$ in ^{99m}Tc labelled colloids.

MATERIALS

1. Whatman No. 1 chromatography paper 4 cm wide.
2. 85% methanol.
3. Appropriate chromatographic chamber for ascending or descending development.

PROCEDURE

1. Place an appropriate quantity of undiluted preparation representing at least 20 000 cpm per strip on each of two chromatographic strips and dry under a stream of nitrogen. The sample size should be in range of 1-25 µL.
2. Develop each chromatogram by either ascending or descending technique in a saturated atmosphere until the solvent front has migrated about 15 cm from the origin (1-1.5 hours).
3. Remove the chromatograms, mark the solvent fronts and air dry.
4. Determine the distribution of radioactivity on the chromatograms using suitable instrumentation, such as a strip scanner or gamma camera, or by dividing the paper strips into 0.5 cm segments and assaying each segment using a suitable gamma counter.

CALCULATION The percent $^{99m}TcO_4^-$ content in the preparation is determined as follows:

(a) $$\frac{\text{cpm between } R_f 0.5\text{-}0.7}{\text{total cpm on strip}} \times 100, \text{ or}$$

(b) $$100 - \frac{\text{cpm at the origin}}{\text{total cpm on strip}} \times 100$$

LIMITS ± 8% $^{99m}TcO_4^-$

APPENDIX

"MICHROM" METHOD WITH ACETONE AS THE SOLVENT SYSTEM

APPLICABILITY For the measurement of $^{99m}TcO_4^-$ in ^{99m}Tc labelled colloids.

MATERIALS

1. Pure cellulose sheets, 1 mm thick, chromatographic quality, 7 mm wide by 57 mm long (e.g., Gelman Instrument Company, Ann Arbor, MI.) are immersed in a 6% suspension of silica gel, 60-200 mesh, grade 62 (Matheson, Coleman, and Bell), and air dried. The strips may be prepared in advance and stored in air-tight vials until used.
2. Acetone.
3. Appropriate flat-bottomed vials for ascending chromatographic development.

PROCEDURE

1. Place an appropriate quantity (dependent on the counting instrumentation to be used) of undiluted preparation 10 mm from the end of two previously prepared strips. The sample size should be 5-10 µL, and the spot should be as small as practicable.
2. Without drying, place the strips in flat-bottomed vials containing 2 mL of acetone.
3. Remove the strips just before the solvent reaches the top (40-45 sec), mark the solvent fronts and air dry.
4. Cut the strips 30 mm from the origin and assay each segment using a suitable gamma counter.

CALCULATION The percent $^{99m}TcO_4^-$ content in the preparation is determined as follows:

$$\frac{\text{cpm on solvent front segment}}{\text{cpm on both segments}} \times 100$$

LIMITS ± 8% $^{99m}TcO_4^-$

PAPER CHROMATOGRAPHY (WITH ALBUMIN LOADED PAPER) AND NITROGEN PURGED SALINE AS THE SOLVENT SYSTEM

APPLICABILITY For the measurement of $^{99m}TcO_4^-$, ^{99m}Tc-HSA, and ^{99m}Tc-MDP in ^{99m}Tc labelled albumin colloid.

MATERIALS

1. Albumin loaded paper is prepared by soaking 4 cm x 30 cm strips of Whatman No. 1 chromatography paper in a 1% aqueous solution of normal human serum albumin for 1 hour. The strips are thoroughly air dried, wrapped in paper towels and stored in a freezer until required.
2. Normal saline, vigorously purged with nitrogen gas for 20 minutes immediately before use.
3. Appropriate chromatographic chamber for descending development.

PROCEDURE

1. Place an appropriate quantity of undiluted preparation representing at least 50 000 cpm on each of two previously prepared chromatographic strips and dry under a stream of nitrogen. The sample size should be 1-25 µL, and the spot should be as small as practicable (but not larger than 3 mm in diameter).
2. Develop the chromatograms by descending technique until the solvent front has migrated about 15 cm from the origin (2-2.5 hours) in a chamber that has been vigorously purged with nitrogen for at least 5 minutes. Purge the chamber with nitrogen throughout the development procedure either by slow continuous flow or vigorous 1-2 minute bursts at 20-30 minute intervals.
3. Remove the chromatograms, mark the solvent fronts and air dry.
4. Determine the distribution of radioactivity using suitable instrumentation, such as a strip scanner or gamma camera, or by dividing the paper strips into 0.5 cm segments and assaying each segment using a suitable gamma counter.

CALCULATION The percent $^{99m}TcO_4^-$ plus ^{99m}Tc-HSA plus ^{99m}Tc-MDP content in the preparation is determined as follows:

$$\frac{\text{cpm between } R_f \text{ 0.7-1.0}}{\text{total cpm on strip}} \times 100$$

LIMITS $\geq$ 8% $^{99m}TcO_4^-$ + ^{99m}Tc-HSA + ^{99m}Tc-MDP

APPENDIX

METHODOLOGY FOR ASSESSING THE BIODISTRIBUTION OF ^{99m}Tc LABELLED COLLOIDS IN MICE

MATERIALS

1. Mice, 20-25 gram male white, Swiss Webster strain.
2. Surgical instruments.
3. Stopwatch or other suitable timing device.
4. 1 cc syringes with 26 G needles.
5. Suitable radioactivity counting instrumentation.

PROCEDURE

1. Warm 3 mice under an infrared lamp for 2-3 minutes to ensure dilation of tail veins.
2. Withdraw 0.05 - 0.10 mL doses having activity appropriate for the counting instrumentation to be used, into 1 cc syringes.
3. Assay each syringe for radioactivity content.
4. Inject doses slowly into tail veins of properly restrained mice.
5. Assay empty syringes and calculate net injected dose.
6. Sacrifice each mouse by decapitation at 10-30 minutes after injection, allowing as much blood as possible to drain from the carcass.
7. Excise in order spleen, lungs and liver.
8. Monitor residual activity in tail. If this activity is > 2% of the decay corrected injected dose (step 5), abort procedure and start again with additional mice.
9. Monitor radioactivity content in liver, spleen, and lungs as well as remaining carcass, using suitable counting instrumentation.
10. Calculate recovered activity as the sum of the radioactivity in liver, spleen, lungs, and residual carcass (excluding tail).
11. Determine percent of recovered activity in liver and spleen (combined) and lungs.

LIMITS

- ≮ 80% in liver and spleen
- ≯ 5% in lungs

TECHNIQUES ANALYTIQUES RELATIVES À LA DÉTERMINATION DE LA PURETÉ RADIOCHIMIQUE DES PRODUITS RADIOPHARMACEUTIQUES

PARTIE III - Colloïdes marqués au technétium 99m

Direction de l'hygiène du milieu
Direction générale de la protection de la santé

Publication autorisée par le
Ministre de la Santé nationale et du Bien-être social

82-DHM-88

DES EXEMPLAIRES DE CE RAPPORT PEUVENT
ÊTRE OBTENUS DE LA

Direction des affaires publiques
Ministère de la Santé nationale et du Bien-être social
5e étage
Immeuble Brooke Claxton
Ottawa K1A 0K9

RÉSUMÉ

L'évaluation de l'efficacité des trousses vendues pour la préparation des produits radiopharmaceutiques est une des activités du programme de contrôle de la qualité des produits radiopharmaceutiques du Bureau de la radioprotection. Le présent rapport décrit une partie de la méthodologie analytique utilisée dans le cadre de ce programme. Ces techniques sont susceptibles d'intéresser le personnel hospitalier chargé de la préparation de ces produits, car de nombreux tests peuvent être effectués rapidement et avec un minimum de matériel, ce qui permet de confirmer la pureté radiopharmaceutique des produits avant de les administrer au malade. Sans doute, les méthodes analytiques utilisées pour évaluer leurs produits intéressent-elles également les fabricants.

Messieurs J.R. McLean, L.J. Rockwell et W.J. Welsh du Bureau de la radioprotection, Direction de l'hygiène du milieu, Ottawa (Ontario) ont contribué à la préparation de ce rapport.

TABLE DES MATIÈRES

	Page
INTRODUCTION	1
TECHNIQUES ANALYTIQUES POUR L'ÉVALUATION DE LA PURETÉ RADIOCHIMIQUE DES COLLOÏDES MARQUÉS AU TECHNÉTIUM 99m.	1
SPÉCIFICATIONS	3
BIBLIOGRAPHIE	5
ANNEXE.	6
Chromatographie sur papier avec du méthanol à 85% comme solvant	6
Méthode "Michrom" utilisant l'acétone comme solvant	7
Chromatographie sur papier (saturé d'albumine) avec comme solvant une solution saline dans laquelle on a fait barboter de l'azote	8
Méthode d'évaluation de la biodistribution chez la souris de colloïdes marqués au ^{99m}Tc.	10

INTRODUCTION

La mise au point des méthodes analytiques présentées dans cette série de rapports fait partie du programme de contrôle de la qualité des produits radiopharmaceutiques du Bureau de la radioprotection. Ces méthodes doivent servir à évaluer la pureté radiochimique et donc, indirectement, l'efficacité des produits radiopharmaceutiques marqués au technétium 99m préparés à partir de trousses. Les méthodes font appel à des techniques d'analyse tant in vitro que in vivo (généralement chez la souris). Il importe que les produits radiopharmaceutiques soient suffisamment purs du point de vue radiochimique. Lorsqu'elles sont administrées à un malade, les impuretés radiochimiques qui accompagnent un produit radiopharmaceutique nuisent à l'obtention de renseignements utiles dans le domaine de la médecine nucléaire. On risque au contraire d'obtenir une irradiation inutile et des images scintigraphiques de qualité médiocre.

Le présent rapport porte sur les colloïdes marqués au ^{99m}Tc (colloïdes du soufre, phytates, colloïdes de l'étain et colloïdes de l'albumine) que l'on utilise pour la visualisation du système réticulo-endothélial (RES). Le premier fascicule de la présente série[1] traite de l'albumine macroagglutinée marquée au ^{99m}Tc et de l'albumine normale marquée au ^{99m}Tc, tandis que le deuxième fascicule[2] porte sur les agents de visualisation des os marqués au ^{99m}Tc (medronate sodium, etidronate sodium, pyrophosphate et pyro-plus trimétaphosphates). Le dernier rapport de la série examinera diverses préparations sous forme de trousses (DTPA, gluceptate et les nombreux dérivés de l'acide iminodiacétique). Les techniques décrites dans le présent rapport intéresseront le personnel des services de radiopharmacie des hôpitaux vu que certains de ces essais peuvent être effectués rapidement et avec un minimum de matériel, de sorte que l'on peut confirmer la pureté radiochimique de ces produits avant de les administrer au malade. Sans doute, la méthodologie analytique utilisée par la section du Bureau chargée du contrôle de la qualité des produits radiopharmaceutiques pour évaluer leurs produits intéressera-t-elle également les fabricants. Les résultats du programme d'analyse sont présentés dans des rapports distincts[3,4,5].

Les lecteurs qui ne connaissent pas la chimie du technétium peuvent consulter le premier fascicule de cette série[1] dans lequel on traite de ce sujet.

TECHNIQUES ANALYTIQUES POUR L'ÉVALUATION DE LA PURETÉ RADIOCHIMIQUE DES COLLOÏDES MARQUÉS AU TECHNÉTIUM 99m

La seule impureté radiochimique importante présente dans les agents de visualisation du RES marqué au ^{99m}Tc est du pertechnétate libre ($^{99m}TcO_4^-$). L'importance de cette impureté soluble dans l'eau est d'autant plus grande que sa répartition dans les tissus diffère de celle du colloïde radiomarqué, ce qui a pour effet d'accroître le niveau du fond de rayonnement dans

les tissus non visés du malade. Les colloïdes radiomarqués peuvent également contenir du ^{99m}Tc réduit et hydrolysé. Bien qu'il représente une impureté radiochimique, ce colloïde sera tout de même capté par le RES du malade et contribuera ainsi à la présence de radioactivité dans les tissus cibles. Il n'est donc pas nécessaire de le doser.

La trousse utilisée pour la préparation du colloïde de l'albumine marquée au ^{99m}Tc, le New England Nuclear Microlite*, contient de l'albumine sérique humaine normale et du medronate sodium ainsi que plusieurs autres ingrédients. Étant donné la possibilité théorique de formation d'albumine normale marquée au ^{99m}Tc ou de medronate sodium marqué au ^{99m}Tc lors de la reconstitution de cette trousse, il importe que l'on surveille également dans la méthodologie analytique la présence éventuelle de ces deux impuretés radiochmiques. Nous présentons ci-après un sommaire des différentes techniques que nous utilisons, et en annexe, une description détaillée des modes opératoires.

La quantité de pertechnétate de ^{99m}Tc libre, qui n'a pas réagi, peut être mesurée soit par chromatographie sur papier[6] ou par la méthode "Michrom" de Colombetti[7]. Pour la chromatographie sur papier, on utilise du papier Whatman n° 1 et du méthanol à 85% comme phase mobile. Pour ce qui est de l'autre méthode, on se sert de cellulose recouverte d'un gel de silice comme phase fixe et d'acétone comme phase mobile. Dans le cas des deux méthodes, le $^{99m}TCO_4^-$ migre avec le solvant. Avec la méthode "Michrom", la valeur de R_f se situe entre 0,9 et 1,0 et entre 0,5 et 0,7 dans le cas de la chromatographie sur papier. Pour effectuer une chromatographie sur papier, il faut de 1 heure à 1,5 heure; quant à la méthode "Michrom" son développement exige moins de deux minutes. Aux fins de l'application d'un programme de réglementation, la méthode de chromatographie sur papier est préférable, puisqu'elle permet de visualiser la position et la forme des pics, leur traînage, l'étalement, etc., et fournit ainsi un plus grand nombre de coordonnées sur la préparation. La méthode "Michrom" est une technique d'essai qui s'est révélée très rapide et fort acceptable. Toutefois, la détection d'un taux important d'impuretés par cette méthode devrait être confirmée à l'aide de la chromatographie sur papier afin d'éliminer la possibilité d'un artéfact dans la méthodologie employée (par exemple, la position de la coupe ou un traînage anormal des pics).

Les méthodes susvisées permettent de mesurer le pertechnétate de ^{99m}Tc libre qui n'a pas réagi, lequel, à l'exception du colloïde de l'albumine marquée au ^{99m}Tc, constitue la seule impureté d'importance. Afin d'évaluer l'efficacité de cette exception du point de vue du marquage, nous utilisons la chromatographie sur papier avec du papier Whatman n° 1 saturé d'albumine et une solution saline dans laquelle on a fait barboter de l'azote comme phase mobile.

---

*Marque de commerce déposée

Il s'agit de la même technique appliquée pour analyser, du point de vue du colloïde du ^{99m}Tc réduit et hydrolysé, les produits contenant de l'albumine normale marquée au ^{99m}Tc[1] et les agents de visualisation des os marqués au ^{99m}Tc[2]. Avec cette méthode, le colloïde de l'albumine marquée au ^{99m}Tc ainsi que le $^{99m}TcO_2$ demeurent sur la ligne de dépôt, alors que l'albumine normale marqué au ^{99m}Tc (^{99m}Tc-HSA), le medronate sodium marqué au ^{99m}Tc (^{99m}Tc-MDP) et le $^{99m}TcO_4^-$ migrent avec le solvant pour donner des pics mal résolus ayant une valeur R_f entre 0,7 et 1,0.

La fixation des agents de visualisation du système réticulo-endothélial dépend de la phagocytose cellulaire des particules colloïdales. La taille des particules dans le cas de cette application est inférieure à un micron, soit bien au-dessous de ce qu'il est possible d'observer avec la plupart des microscopes classiques. Les études de distribution tissulaire prennent donc une importance particulière à l'égard de cette catégorie de produits radiopharmaceutiques. Nos études sont effectuées à l'aide de souris mâles de la souche suisse Webster, à la Direction générale de la protection de la santé, et obéissent généralement à la monographie américaine (USP) concernant le colloïde du soufre marqué au ^{99m}Tc[6]. Ces études ont pour but de mesurer la clairance sanguine du colloïde et la fixation dans certains organes où les produits radiopharmaceutiques marqués et des impuretés radiochimiques vont le plus probablement se concentrer. On examine à cet effet, de 10 à 30 minutes après injection, le foie et la rate (où le colloïde marqué au ^{99m}Tc devrait se déposer) et les poumons (où devraient s'accumuler les particules de dimensions plus importantes).

SPÉCIFICATIONS

À ce jour, la pharmacopée américaine a publié une monographie uniquement pour le colloïde du soufre marqué au ^{99m}Tc. Compte tenu, toutefois, que tous les colloïdes marqués au ^{99m}Tc sont des agents de visualisation du système réticulo-endothélial, nous appliquons les limites indiquées dans la monographie de la pharmocopée américaine aux résultats d'analyse relatifs aux phytates, aux colloïdes de l'étain et de l'albumine ainsi qu'au colloïde du soufre. Si la pharmacopée américaine publie des monographies à l'égard de ces agents, nous modifierons alors nos spécifications en conséquence. Les limites que nous utilisons actuellement s'établissent comme suit:

Pureté radiochimique: pas moins de 92%.

Biodistribution: pas moins de 80% de l'activité recouvrée dans le foie et la rate, et pas plus de 5% dans les poumons.

L'inclusion de la rate dans la limite de 80% est le seul écart observé par rapport aux indications de la monographie de la pharmacopée américaine. La limite de 92% relative à la pureté radiochimique ne tient compte que de l'impureté pertechnétate de ^{99m}Tc. Pour ce qui est du colloïde de l'albumine marquée au ^{99m}Tc, entrent également en ligne de compte le ^{99m}Tc-HSA et le ^{99m}Tc-MDP; ainsi, la somme de $^{99m}TcO_4^-$, ^{99m}Tc-HSA et ^{99m}Tc-MDP ne doit pas excéder 8%.

Certaines trousses de phytates donnent une solution colloïdale plus fine, c'est-à-dire aux particules plus petites. Ces préparations peuvent donner lieu à une intensité de fixation moins élevée dans le foie et plus importante au niveau de la moelle osseuse. Une trousse de phytates qui n'est pas conforme à la spécification minimale de 80% dans le foie et la rate devrait faire l'objet d'une seconde analyse portant sur l'ensemble du RES (foie, rate et moelle osseuse). On ne réalise pas de façon systématique l'isolement de la moelle osseuse, car il s'agit d'une pratique complexe, qui exige un long délai d'exécution.

BIBLIOGRAPHIE

1. McLean, J.R., Rockwell, L.J., Welsh, W.J.: Techniques analytiques relatives à la détermination de la pureté radiochimique des produits radiopharmaceutiques, 1re partie, Direction de l'hygiène du milieu, 77-E-EHD-16 (1977).

2. McLean, J.R., Rockwell, L.J., Welsh, W.J.: Techniques analytiques relatives à la détermination de la pureté radiochimique des produits radiopharmaceutiques, 2e partie, Direction de l'hygiène du milieu, 81-DHM-70 (1981).

3. McLean, J.R., Rockwell, L.J., Welsh, W.J.: Résultats d'études de contrôle de la qualité sur les médicaments radioactifs marqués au technétium 99m préparés à partir de nécessaires, Direction de l'hygiène du milieu, 78-EHD-24 (1978).

4. McLean, J.R., Rockwell, L.J., Welsh, W.J.: Résultats d'études de contrôle de la qualité sur les médicaments radioactifs marqués au technétium 99m préparés à partir de nécessaires (1978-1979), Direction de l'hygiène du milieu, 81-EHD-75 (1981).

5. McLean, J.R., Rockwell, L.J., Welsh, W.J.: Résultats d'études de contrôle de la qualité sur les médicaments radioactifs marqués au technétium 99m préparés à partir de nécessaires. (1980-1981) - en voie de publication.

6. United States Pharmacopeia, vingtième révision (1980), page 766.

7. Colombetti, L.G., Moerlien, S. et coll.: Rapid Determination of Oxidation State of Unbound ^{99m}Tc and Labelling Yield in ^{99m}Tc-Labelled Radiopharmaceuticals, J. Nucl. Med. 17:805-809 (septembre 1976)

ANNEXE

CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER AVEC DU MÉTHANOL À 85% COMME SOLVANT

APPLICATION — Dosage du $^{99m}TcO_4^-$ dans des colloïdes marqués au ^{99m}Tc.

MATÉRIEL

1. Papier à chromatographie Whatman n° 1 (4 cm de largeur).
2. Méthanol à 85%.
3. Cuve pour chromatographie ascendante ou descendante.

MODE OPÉRATOIRE

1. Déposer une quantité suffisante de préparation non diluée représentant au moins 20 000 cpm par bande sur deux bandes chromatographiques distinctes et sécher à l'aide d'un courant d'azote. La taille de l'échantillon devrait se situer entre 1 et 25 µL.
2. Développer chaque chromatogramme à l'aide de la méthode ascendante ou de la méthode descendante dans une atmosphère saturée, jusqu'à ce que le front du solvant se trouve à 15 cm environ de la ligne de dépôt (1h-1,5h).
3. Retirer les chromatogrammes de la cuve, marquer les fronts de solvant et laisser sécher à l'air.
4. Déterminer la répartition de la radioactivité sur les chromatogrammes à l'aide des instruments appropriés, tels qu'un scannographe de bande ou une caméra à rayons gamma, ou en divisant les bandes de papier en segments de 0,5 cm et en mesurant la radioactivité de chaque segment à l'aide d'un tube compteur gamma.

CALCULS — La teneur en pour cent du $^{99m}TcO_4^-$ dans la préparation est calculée de la façon suivante:

a) $\dfrac{\text{cpm entre } R_f \text{ 0,5-0,7}}{\text{Nombre total de cpm sur la bande}} \times 100$, ou

b) $100 - \dfrac{\text{cpm à l'origine}}{\text{Nombre total de cpm sur la bande}} \times 100$

LIMITES — $\pm$ 8% $^{99m}TcO_4^-$

MÉTHODE "MICHROM" AVEC DE L'ACÉTONE COMME SOLVANT

APPLICATION — Dosage du $^{99m}TcO_4^-$ dans des colloïdes marqués au ^{99m}Tc.

MATÉRIEL

1. Feuilles de cellulose pure d'une épaisseur de 1 mm, de qualité pour chromatographie, mesurant 7 mm sur 57 mm (ex.: Gelman Instrument Company, Ann Arbor, MI) immergées dans une suspension à 6% de gel de silice, (mailles de 60 à 200), qualité 62 (Matheson, Coleman et Bell) séchées à l'air. Les bandes peuvent être préparées à l'avance et conservées dans des flacons hermétiques jusqu'au moment de leur utilisation.
2. Acétone.
3. Flacons à fond plat pour le développement par chromatographie ascendante.

MODE OPÉRATOIRE

1. Déposer une quantité suffisante (selon le type de compteur utilisé) de préparation non diluée à 10 mm de l'extrémité des deux bandes déjà préparées. La taille de l'échantillon devrait se situer entre 5 et 10 µL, et la tache devrait être aussi petite que possible.
2. Sans faire sécher, placer les bandes dans des flacons à fond plat contenant 2 mL d'acétone.
3. Retirer les chromatogrammes juste avant que le solvant ait atteint l'extrémité supérieure de la bande (40-45 s), marquer les fronts de solvant et laisser sécher à l'air.
4. Couper les bandes à 30 mm de la ligne de dépôt et mesurer la radioactivité de chaque segment à l'aide d'un tube compteur gamma.

CALCULS — La teneur en pour cent du $^{99m}TcO_4^-$ dans la préparation est calculée comme suit:

$$\frac{\text{cpm sur le segment du front du solvant} \times 100}{\text{cpm sur les deux segments}}$$

LIMITES — $\pm$ 8% $^{99m}TcO_4^-$

ANNEXE

CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER (SATURÉ D'ALBUMINE) AVEC COMME SOLVANT UNE SOLUTION SALINE DANS LAQUELLE ON A FAIT BARBOTER DE L'AZOTE

APPLICATION Dosage du $^{99m}TcO_4^-$, du ^{99m}Tc-HSA et du ^{99m}Tc-MDP dans le colloïde de l'albumine marquée au ^{99m}Tc.

MATÉRIEL

1. Le papier saturé d'albumine est préparé en faisant tremper des bandes de papier Whatman n° 1 de 4 cm x 30 cm dans une solution aqueuse à 1% de sérum albumine humaine normale, pendant 1 heure. Les bandes sont bien séchées à l'air, enveloppées dans des serviettes de papier et conservées au congélateur jusqu'au moment de l'utilisation.
2. Solution physiologique normale dans laquelle on a fait barboter un puissant courant d'azote pendant 20 minutes, immédiatement avant utilisation.
3. Cuve à chromatographie pour chromatographie descendente.

MODE OPÉRATOIRE

1. Déposer une quantité suffisante de préparation non diluée représentant au moins 50 000 cpm sur chacune des deux bandes chromatographiques déjà préparées et sécher sous un courant d'azote. La taille de l'échantillon devrait se situer entre 1 et 25 µL, et la tache devrait être aussi petite que possible et ne pas dépasser 3 mm de diamètre.
2. Développer les chromatogrammes à l'aide de la technique descendante jusqu'à ce que le front du solvant se trouve à 15 cm environ de la ligne de dépôt (2-2,5 heures) dans une cuve dans laquelle on a fait barboter un fort courant d'azote pendant au moins 5 minutes. Faire circuler l'azote dans la cuve pendant toute la durée du développement soit en créant un flot lent mais continu soit par barbotage puissant de 1 à 2 minutes, toutes les 20 à 30 minutes.
3. Retirer les chromatogrammes, marquer les fronts du solvant et laisser sécher à l'air.
4. Déterminer la répartition de la radioactivité à l'aide des instruments appropriés, soit un scannographe de bande ou une caméra à rayons gamma, ou en divisant les bandes de papier en segments de 0,5 cm et en mesurant la radioactivité de chaque segment à l'aide d'un tube compteur gamma.

CALCULS La teneur en pour cent du $^{99m}TcO_4^-$, du ^{99m}Tc-HSA et du ^{99m}Tc-MDP dans la préparation est calculée comme suit:

$$\frac{\text{cpm entre } R_f \text{ 0,7-1,0}}{\text{Nombre total de cpm sur la bande}} \times 100$$

LIMITES $\leq$ 8% $^{99m}TcO_4^-$ + ^{99m}Tc-HSA + ^{99m}Tc-MDP

ANNEXE

MÉTHODE D'ÉVALUATION DE LA BIODISTRIBUTION CHEZ LA SOURIS DE COLLOÏDES MARQUÉS AU ^{99m}Tc

MATÉRIEL

1. Souris blanches mâles de 20 à 25 grammes, de la souche suisse Webster.
2. Instruments chirurgicaux.
3. Chronomètre ou autre instrument minuteur.
4. Seringues de 1 cc avec aiguilles 26G.
5. Compteur de radioactivité.

MODE OPÉRATOIRE

1. Réchauffer 3 souris sous une lampe à infrarouge pendant 2 à 3 minutes afin d'assurer la dilatation des veines de la queue.
2. À l'aide de seringues de 1 cc, prélever des doses de 0,05 à 0,10 mL accusant une radioactivité suffisante pour que le compteur puisse fonctionner.
3. Mesurer la radioactivité de chaque seringue.
4. La contention des souris étant bien assurée, injecter lentement les doses de préparation dans les veines de la queue.
5. Mesurer la radioactivité des seringues vides et calculer les doses injectées.
6. Sacrifier chaque souris par décapitation de 10 à 30 minutes après l'injection, et laisser s'écouler de la carcasse la plus grande quantité possible de sang.
7. Prélever, dans l'ordre, la rate, les poumons et le foie.
8. Mesurer l'activité résiduelle au niveau de la queue. Si celle-ci est supérieure à 2% de la dose injectée corrigée pour tenir compte de la désintégration, arrêter l'opération et recommencer avec une autre souris.
9. Mesurer la radioactivité dans le foie, la rate et les poumons ainsi que dans le reste de la carcasse, à l'aide d'un compteur.
10. Calculer l'activité recouvrée comme la somme de la radioactivité dans le foie, la rate, les poumons et le reste de la carcasse (à l'exclusion de la queue).
11. Établir le pourcentage de l'activité recouvrée dans le foie et la rate (groupés) et les poumons.

LIMITES

$\leq$ 80% dans le foie et la rate
$\geq$ 5% dans les poumons